

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.05.004

· 基础研究 ·

LncRNA GUSBP11 通过 miR-339-5p/MDM2 轴调节胃癌细胞的恶性生物学行为

黄星华¹, 吕微风¹, 林蔚², 陈家钊¹, 何娴¹ (1. 广州中医药大学附属佛山中医院 检验科, 佛山 广东 528000; 2. 佛山市第一人民医院 临床医学研究所, 佛山 广东 528000)

[摘要] **目的:** 探究长链非编码 RNA 葡萄糖醛酸酶 β 假基因 11 (GUSBP11) 调节 miR-339-5p/小鼠双分钟同源物 2 (MDM2) 轴对胃癌细胞 AGS 增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:** 收集 2023 年 12 月至 2024 年 6 月期间在广州中医药大学附属佛山中医院手术治疗的 25 例胃癌患者的癌旁组织及癌组织。常规培养胃癌细胞 AGS 和正常胃黏膜上皮细胞 GES-1, 用转染试剂将对照质粒和敲减质粒转染 AGS 细胞, 分为 Ctrl 组、sh-NC、sh-GUSBP11、sh-GUSBP11 + anti-NC、sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p。qPCR 法检测胃癌组织及各组细胞中 GUSBP11、miR-339-5p 和 MDM2 mRNA 的表达; 双萤光素酶报告基因实验检测 GUSBP11 或 MDM2 与 miR-339-5p 间的靶向关系; EdU 法检、Transwell 小室实验、划痕愈合实验和 WB 法分别检测各组 AGS 的增殖、迁移和侵袭能力和细胞中 CDK1、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达; AGS 细胞移植瘤实验检测敲减 GUSBP11 对移植瘤生长的影响。**结果:** 胃癌组织和细胞中 GUSBP11、MDM2 mRNA 均呈高表达 (均 $P < 0.05$), miR-339-5p 呈低表达 ($P < 0.05$)。GUSBP11 与 miR-339-5p 和 MDM2 与 miR-339-5p 间存在靶向关系。在 AGS 细胞中敲减 GUSBP11 可明显抑制 MDM2 蛋白、促进 miR-339-5p 的表达而抑制 miR-339-5p 则可促进 MDM2 蛋白表达。敲减 GUSBP11 可抑制 AGS 细胞的增殖、迁移和侵袭能力而抑制 miR-339-5p 则可逆转此作用。敲减 GUSBP11 可明显抑制 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达而抑制 miR-339-5p 则可逆转此作用。敲减 GUSBP11 可明显抑制 AGS 细胞移植瘤的生长。**结论:** GUSBP11 在胃癌组织和细胞中呈高表达, 敲减 GUSBP11 表达可能通过调控 miR-339-5p/MDM2 轴抑制胃癌细胞的恶性生物学行为。

[关键词] 胃癌; 长链非编码 RNA 葡萄糖醛酸酶 β 假基因 11; miR-339-5p; 小鼠双分钟同源物 2; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)05-0476-08

LncRNA GUSBP11 regulates malignant biological behaviors of gastric cancer cells through the miR-339-5p/MDM2 axis

HUANG Xinghua¹, LYU Weifeng¹, LIN Wei², CHEN Jiayang¹, HE Xian¹ (1. Department of Laboratory Medicine, Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000, Guangdong, China; 2. Clinical Medical Research Institute, Foshan First People's Hospital, Foshan 528000, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of long non-coding RNA glucuronidase β pseudogene 11 (GUSBP11) regulating miR-339-5p/mouse two-minute homolog 2 (MDM2) axis on the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer AGS cells. **Methods:** Cancerous and adjacent tissues from 25 gastric cancer patients who underwent surgical treatment at Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine from December 2023 to June 2024 were collected. Gastric cancer AGS cells and normal gastric mucosal epithelial GES-1 cells were routinely cultured. The control plasmids and knockdown plasmids were transfected into AGS cells using transfection reagents, dividing the cells into Ctrl group, sh-NC group, sh-GUSBP11 group, sh-GUSBP11 + anti-NC group, and sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p group. The mRNA expression of GUSBP11, miR-339-5p, and MDM2 in gastric cancer tissues and cells of each group was detected by qPCR. A dual-luciferase reporter gene assay was used to detect the targeting relationship between GUSBP11 or MDM2 and miR-339-5p. EdU staining, scratch healing assay, and Transwell chamber assay were adopted to assess the proliferation, migration, and invasion abilities of AGS cells, respectively. WB assay was used to measure the protein expression of CDK1, MMP-2, and MMP-9 in AGC cells. The effects of GUSBP11 knockdown on tumor growth were examined through AGS cell xenograft experiments. **Results:** The mRNA expression of GUSBP11 and MDM2 were significantly upregulated in gastric cancer tissues and cells (both $P < 0.05$), while miR-339-5p was significantly downregulated

[基金项目] 广东省基础与应用基础研究基金 (No. 2022A1515220156)

[作者简介] 黄星华 (1971—), 男, 学士, 副主任技师, 主要从事胃肠道癌症的基础研究

[通信作者] 黄星华 (扫码获取作者联系方式)



($P < 0.05$). A targeting relationship was found between GUSBP11 and miR-339-5p, as well as between MDM2 and miR-339-5p. Knockdown of GUSBP11 in AGS cells significantly inhibited MDM2 protein expression and promoted miR-339-5p expression, while inhibition of miR-339-5p promoted MDM2 protein expression. GUSBP11 knockdown significantly inhibited the proliferation, migration, and invasion of AGS cells, while inhibition of miR-339-5p reversed this effect. GUSBP11 knockdown significantly inhibited the protein expression of CDK1, MMP-2, and MMP-9, and inhibition of miR-339-5p reversed this effect. Furthermore, GUSBP11 knockdown significantly inhibited the growth of AGS cell xenografts. **Conclusion:** GUSBP11 is highly expressed in gastric cancer tissues and cells, and knocking down GUSBP11 expression may inhibit malignant biological behaviors of gastric cancer cells through regulating the miR-339-5p/MDM2 axis.

[Key words] gastric cancer; long non-coding RNA beta-glucuronidase pseudogene 11 (lncRNA GUSBP11); miR-339-5p; mouse double minute homolog 2 (MDM2); proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(5): 476-483. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.05.004]

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一。大多数早期胃癌患者通常没有明显的症状,部分患者初诊时已出现淋巴结转移,甚至出现远处器官转移,影响患者预后和生存率^[1],虽然手术治疗、化疗、中医治疗等综合疗法能改善胃癌患者的症状,但目前治疗方法的疗效有限,患者的病死率较高。因此,研究肿瘤标志物并开发新的胃癌治疗方法非常重要。研究^[2]表明,lncRNA在各种类型的癌症中具有重要功能。lncRNA通过调节不同水平的基因表达来调节各种生物过程,包括转录、转录前和转录后水平,lncRNA在人类癌症中失调,并在癌症发展过程中作为肿瘤抑制因子或癌基因,lncRNA参与胃癌的进展^[3-4]。研究^[5]发现,与健康对照相比,胃癌患者血浆中lncRNA葡萄糖醛酸酶 β 假基因11(glucosidase β pseudogene 11, GUSBP11)的水平显著升高,血浆GUSBP11可能是胃癌诊断的非侵入性生物标志物。GUSBP11在胃癌中具体的作用机制需深入探索。miRNA在转录后水平上错综复杂地调节基因表达。最近的研究^[6]表明,miRNA通过与肿瘤相关基因组区域的结合来控制肿瘤癌基因和抑癌基因的表达。据报^[7]道,miRNA-339-5p与胃癌患者的转移和不良预后密切相关,miRNA-339-5p可能通过负调控去甲基化酶ALKBH1来抑制胃癌的恶性进展。小鼠双分钟同源物2(mouse double minute 2, MDM2)是一种癌蛋白,通过泛素连接酶活性诱导p53降解。研究^[8]表明,MDM4、MDM2和MEK的三重抑制对野生型TP53结肠和胃癌细胞具有有效的抗肿瘤作用。通过Starbase和targetscan数据库数据分析发现,GUSBP11、MDM2分别与miR-339-5p之间存在靶向结合位点。本研究将通过体内外实验探究GUSBP11是否通过调控miR-339-5p/MDM2轴调节胃癌细胞的恶性生物学行为,为临床治疗胃癌提供实验依据和潜在的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 胃癌标本、细胞及主要试剂

收集2023年12月至2024年6月间在广州中医药大学附属佛山中医院手术治疗的25例胃癌患者的癌旁组织及癌组织,于液氮中保存。本研究方案经本医院伦理委员会审批[批准号:KY(2022)404],所有患者均充分知情并签署了知情同意书。所有患者在术前均未进行相关治疗。

20只BALB/C雄性裸鼠(体重20~23 g)购于武汉贝赛模式生物科技公司,许可证号:SCXK(鄂)2022-0029。

人胃癌AGS细胞购买于武汉尚恩生物公司,人胃黏膜上皮细胞GES-1购买于武汉普诺赛生命科技公司,sh-NC、sh-GUSBP11、anti-NC、anti-miR-339-5p、miR-NC、MDM2质粒购自云舟生物公司,GUSBP11、miR-339-5p、MDM2、U6、GAPDH引物购自尚亚生物公司,EdU细胞增殖检测试剂盒(货号:E607204-0100)购自生工生物公司,双荧光素酶试剂盒(货号:JKR23008)购自金开瑞公司,兔抗CDK1(货号:MA5-32055)、MMP-2(货号:PA5-115583)、MMP-9(货号:PA5-27191)抗体均购自赛默飞公司;Lipofectamine®3000转染试剂(货号:L3000-015,上海恒斐生物科技有限公司);TaqMan MicroRNA Reverse Transcription逆转录试剂盒购自美国Life Technologies公司;HRP标记的山羊抗兔二抗IgG(货号:A0208,碧云天生物技术公司)

1.2 细胞培养、处理与分组

将AGS与GES-1细胞在含10%胎牛血清的DMEM培养基,在5% CO₂、37℃的培养箱中进行常规培养。用转染试剂将对照质粒和敲减质粒载体转染至AGS细胞中,分为Ctrl组(不转染)、sh-NC组(转染sh-NC)、sh-GUSBP11组(转染sh-GUSBP11)、sh-GUSBP11 + anti-NC组(共转染sh-GUSBP11和anti-NC)、sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p组(共转染sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p),转染质粒48 h后进行后续实验。

1.3 qPCR 法检测胃癌组织及各组细胞中 GUSBP11、miR-339-5p 和 MDM2 mRNA 的表达

用 TRIzol 试剂提取胃癌组织及各组细胞中的总 RNA, 用 TaqMan MicroRNA Reverse Transcription 逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 qPCR 反应, PCR 反应参数: 95 °C 1 min, 95 °C 15 s, 65 °C 60 s, 共 40 个循环。以 GAPDH、U6 作内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 GUSBP11、miR-339-5p、MDM2 mRNA 的表达水平, 各引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列
GUSBP11	F: CCCGTCGGTCATTCTGTT R: TGGAGGGCGTGGTCTTCT
miR-339-5p	F: GCUUGGAACACUGUCAC R: CCUCUGUCCAACAUGUGC
U6	F: CTCGCTTCGGCAGCACA R: AACGCTTCACGAATTTGCG
MDM2	F: CAGTAGCAGTGAATCTACAGGGA R: CTGATCCAACCAATCACCTGAAT
GAPDH	F: GTCTCCTCTGACTTCAACACGC R: ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

1.4 双萤光素酶报告基因实验检测 GUSBP11 或 MDM2 与 miR-339-5p 间的靶向关系

用 Starbase 和 targetscan 数据库预测目标基因, 结果发现, GUSBP11 或 MDM2 与 miR-339-5p 均存在靶向关系。构建 GUSBP11 和 MDM2 野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 载体, 分别克隆到萤光素酶载体中, 与 miR-NC、miR-339-5p mimics 共转染 AGS 细胞。实验分为: GUSBP11-WT + miR-NC 组、GUSBP11-WT + miR-339-5p mimics 组、GUSBP11-MUT + miR-NC 组、GUSBP11-MUT + miR-339-5p mimics 组、MDM2-WT + miR-NC 组、MDM2-WT + miR-339-5p mimics 组、MDM2-MUT + miR-NC 组和 MDM2-MUT + miR-339-5p mimics 组。培养 48 h 后用萤光素酶检测试剂盒检测各组细胞中的萤光素酶活性。

1.5 EdU 法检测各组 AGS 的增殖能力

将各组 AGS 细胞以 4×10^4 个/孔接种于 96 孔板中, 在含反应液 EdU 试剂的 DMEM 培养基中培养 24 h, 细胞经固定后避光加入 Apollo 荧光染料和 DAPI 进行双染色。用荧光显微镜进行观察、拍照, 并统计 EdU 阳性的细胞百分率。

1.6 划痕愈合实验检测各组 AGS 细胞的迁移能力

将各组 AGS 细胞以 1×10^4 个/孔接种至 6 孔板, 当细胞汇合度至 100% 时, 用移液器吸头于单层细胞上划痕, PBS 洗涤漂浮的细胞, 在含 0.1% FBS 的 DMEM 培

养基中培养 24 h, 在 0、24 h 时用倒置显微镜观察、拍照, 记录划痕愈合情况, 以“(最终痕迹面积-初始痕迹面积)/初始痕迹面积 $\times 100\%$ ”计算划痕愈合率。

1.7 Transwell 小室实验检测各组 AGS 细胞的侵袭能力

将 AGS 细胞以 1×10^4 个/孔接种至 Transwell 上室(预先包被 Matril 基质胶), 下室中加入 600 μ L 含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 培养 24 h 后用 4% 甲醛固定 15 min, 0.1% 结晶紫染色液处理 30 min。在导致显微镜下观察、拍照, 计算各组 AGS 细胞的侵袭数量。

1.8 WB 法检测各组 AGS 细胞中 CDK1、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达

用蛋白裂解液提取各组 AGS 细胞中的总蛋白、经蛋白定量后将其 PAGE 分离并转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉室温处理 1 h, 加入一抗 (CDK1: 1:1 000, MMP-2: 1:1 000, MMP-9: 1:1 000 和 β -actin: 1:2 000) 4 °C 下处理过夜, 辣根过氧化物酶标记二抗室温下处理 1 h, ECL 显示液显影, 用凝胶成像系统捕获图像, 用 Image J 软件分析蛋白条带灰度水平。

1.9 AGS 细胞移植瘤实验检测敲减 GUSBP11 对移植瘤生长的影响

将 AGS 细胞制备成密度为 1×10^7 个/mL 悬液, 在裸鼠右前肢腋下注射 100 μ L sh-NC 或 sh-GUSBP11 组 AGS 细胞。小鼠随机分为 sh-NC 组和 sh-GUSBP11 组, 每组 6 只。35 d 后安乐死方式处死小鼠, 测量肿瘤体积并称其体质量, 检测 GUSBP11、miR-339-5p、MDM2 表达水平。

1.10 免疫组织法检测移植瘤组织中 MDM2 蛋白的表达

取 1.9 中所取肿瘤组织, 充分漂洗后以 3% 过氧化氢处理 15 min, 随后加入 MDM2 (1:1 000) 一抗, 于 4 °C 下处理过夜, 经 DAB 染色后, 漂洗、封片, 置于显微镜下观察。使用 Image J 软件分析组织中 MDM2 蛋白表达情况。

1.11 统计学处理

用 SPSS 25.0 分析实验数据。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间差异比较用独立样本 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析, SNK-q 检验用来比较多组间差异。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

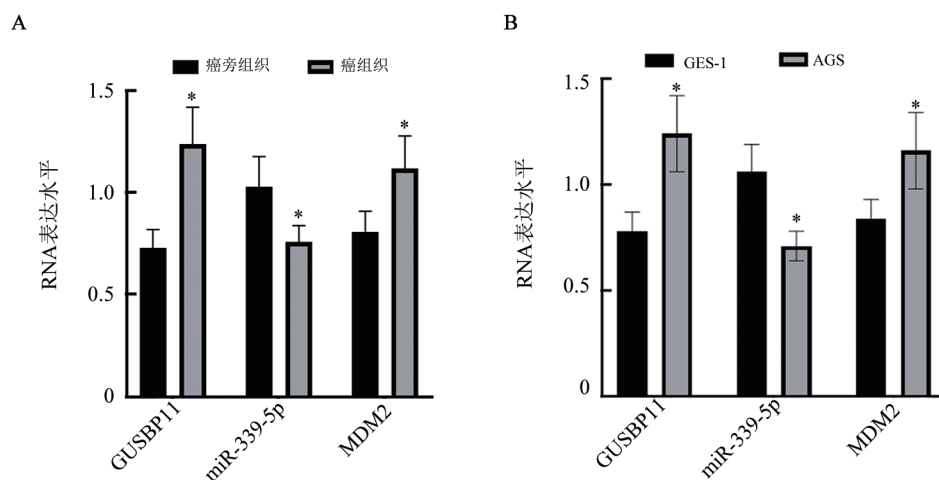
2 结果

2.1 在胃癌组织和细胞中 GUSBP11 和 MDM2 mRNA 呈高表达而 miR-339-5p 呈低表达

qPCR 法检测结果 (图 1) 显示, 与癌旁组织比较,

胃癌组织中 GUSBP11 和 MDM2 mRNA 呈高表达 ($P < 0.05$), miR-339-5p 呈低表达 ($P < 0.05$); 与正常胃黏膜细胞 GES-1 相比, 胃癌细胞中 GUSBP11 和

MDM2 mRNA 呈高表达 ($P < 0.05$), miR-339-5p 呈低表达 ($P < 0.05$) (图2)。



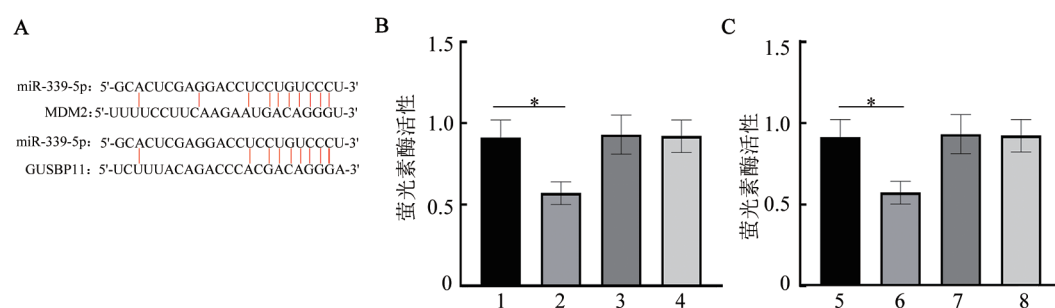
与癌旁组织或 GES-1 细胞比较, * $P < 0.05$ 。

图1 GUSBP11、miR-339-5p、MDM2在胃癌组织和细胞中的表达

2.2 GUSBP11 与 miR-339-5p 和 MDM2 与 miR-339-5p 间存在靶向结合关系

数据库数据分析结果(图2A)发现, GUSBP11 与 miR-339-5p, 以及 MDM2 与 miR-339-5p 之间存在靶向结合位点。双萤光素酶报告基因实验检测结果(图2B)显示, 与 GUSBP11-WT + miR-NC 组比较, GUSBP11-WT + miR-339-5p mimics 组 AGS 细胞中萤光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$), 与 GUSBP11-MUT + miR-NC 组比较, GUSBP11-MUT + miR-339-5p

mimics 组 AGS 细胞中萤光素酶活性无明显变化; 与 MDM2-WT + miR-NC 组比较, MDM2-WT + miR-339-5p mimics 组萤光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$); 与 MDM2-MUT + miR-NC 组比较, MDM2-MUT + miR-339-5p mimics 组 AGS 细胞中萤光素酶活性无明显变化(图2C)。实验结果说明, GUSBP11 与 miR-339-5p 和 MDM2 与 miR-339-5p 间存在靶向结合关系。



1: GUSBP11-WT + miR-NC 组; 2: GUSBP11-WT + miR-339-5p mimics 组; 3: GUSBP11-MUT + miR-NC 组; 4: GUSBP11-MUT + miR-339-5p mimics; 5: MDM2-WT + miR-NC 组; 6: MDM2-WT + miR-339-5p mimics 组; 7: MDM2-MUT + miR-NC 组; 8: MDM2-MUT + miR-339-5p mimics。A: 数据库预测 GUSBP11、MDM2 与 miR-339-5p 结合位点; B: 双萤光素酶检测 GUSBP11 与 miR-339-5p 靶向关系; C: 双萤光素酶报告实验检测 MDM2 与 miR-339-5p 靶向关系。* $P < 0.05$ 。

图2 双萤光素酶报告基因实验验证 GUSBP11、MDM2 与 miR-339-5p 的靶向关系

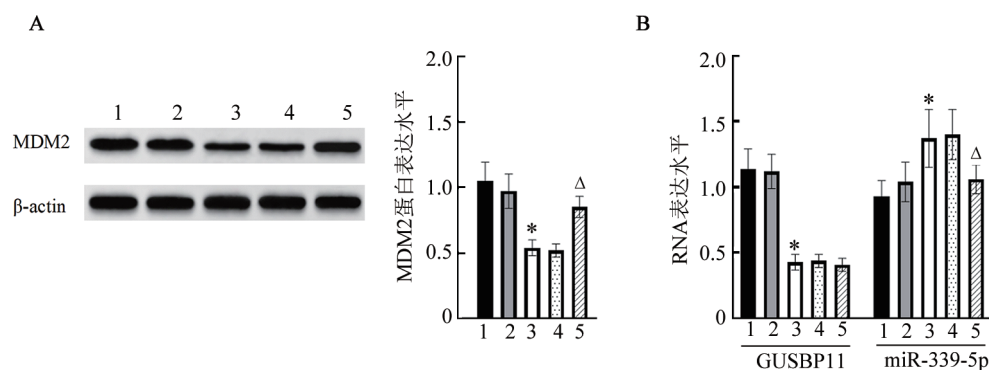
2.3 在 AGS 细胞中敲减 GUSBP11 可抑制 MDM2 蛋白、促进 miR-339-5p 的表达而抑制 miR-339-5p 则可促进 MDM2 蛋白表达

WB 法检测结果(图3)显示, 与 sh-NC 组相比, sh-

GUSBP11 组 AGS 细胞中 MDM2 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$), 与 sh-GUSBP11 + anti-NC 组比较, sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p 组 AGS 细胞中 MDM2 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$); qPCR 法检测结果(图

8)显示,与sh-NC组比较,sh-GUSBP11组AGS细胞中GUSBP11表达显著降低($P < 0.05$),而miR-339-5p表达水平显著升高($P < 0.05$);与sh-GUSBP11 + anti-NC组相比,sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p组AGS细胞中miR-339-5p表达显著下降($P < 0.05$),

GUSBP11无明显变化。实验结果说明,敲减GUSBP11可抑制AGS细胞中MDM2蛋白表达,促进miR-339-5p的表达;抑制miR-339-5p则可促进MDM2蛋白表达。



1: Ctrl组; 2: sh-NC组; 3: sh-GUSBP11组; 4: sh-GUSBP11 + anti-NC组; 5: sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p组。与sh-NC组相比,

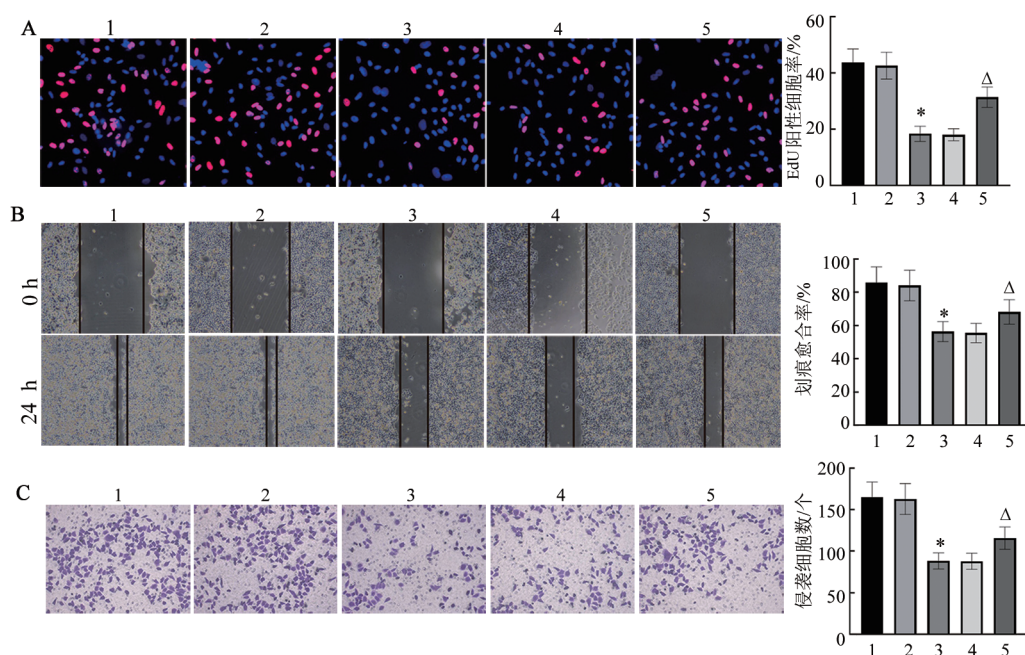
* $P < 0.05$; 与sh-GUSBP11 + anti-NC组相比,^Δ $P < 0.05$ 。

图3 各组AGS细胞中GUSBP11、miR-339-5p、MDM2蛋白的表达水平

2.4 敲减GUSBP11可抑制AGS细胞的增殖、迁移和侵袭能力而抑制miR-339-5p则可逆转此作用

EdU法、划痕愈合实验和Transwell小室实验检测结果(图4)显示,与sh-NC组相比,sh-GUSBP11组AGS细胞的EdU阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数均明显降低(均 $P < 0.05$);与sh-GUSBP11 + anti-NC组

相比,sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p组AGS细胞的EdU阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数均明显升高($P < 0.05$)。实验结果说明,敲减GUSBP11可明显抑制AGS细胞的增殖、迁移和侵袭能力,抑制miR-339-5p则可逆转敲减GUSBP11对AGS的作用。



1: Ctrl组; 2: sh-NC组; 3: sh-GUSBP11组; 4: sh-GUSBP11 + anti-NC组; 5: sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p组。

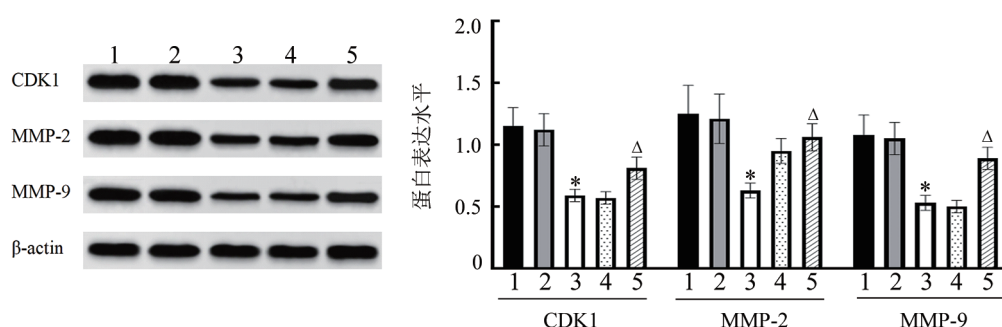
与sh-NC组相比,* $P < 0.05$; 与GUSBP11 + anti-NC组相比,^Δ $P < 0.05$ 。

图4 各组AGS细胞的增殖、迁移和侵袭能力

2.5 敲减 GUSBP11 可明显抑制 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达而抑制 miR-339-5p 则可逆转此作用

WB 法检测结果(图 5)显示,与 sh-NC 组相比,sh-GUSBP11 组 AGS 细胞中 CDK1、MMP-2、MMP-9 表达均明显下调(均 $P < 0.05$);与 sh-GUSBP11 + anti-

NC 组相比,sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p 组 AGS 细胞中 CDK1、MMP-2、MMP-9 表达均明显上调(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,敲减 GUSBP11 可明显抑制 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达,而抑制 miR-339-5p 则可逆转敲减 GUSBP11 对 AGS 细胞的作用。



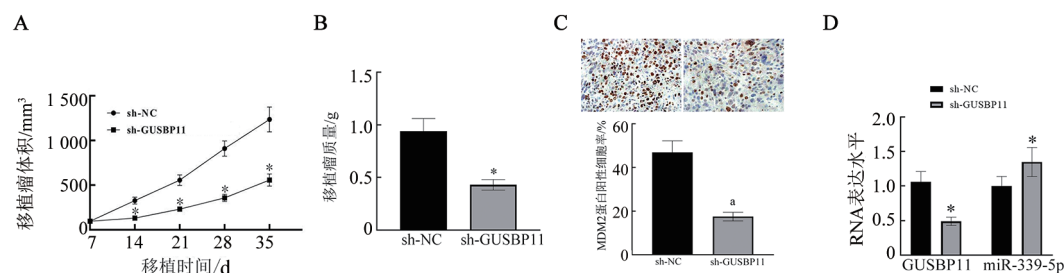
1: Ctrl 组; 2: sh-NC 组; 3: sh-GUSBP11 组; 4: sh-GUSBP11 + anti-NC 组; 5: sh-GUSBP11 + anti-miR-339-5p 组

图 5 WB 法检测各组 AGS 细胞中 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达

2.6 敲减 GUSBP11 可明显抑制 AGS 细胞移植瘤的生长

AGS 细胞裸鼠移植瘤实验、IHC 法和 qPCR 法检测结果(图 6)显示,与 sh-NC 组相比,sh-GUSBP11 组

移植瘤体积和质量均明显下降(均 $P < 0.05$)、GUSBP11 和 MDM2 蛋白表达均明显下调(均 $P < 0.05$), miR-339-5p 上调表达($P < 0.05$)。



A: 移植瘤体积生长情况; B: 移植瘤质量; C: 移植瘤组织中 MDM2 阳性细胞; D: qPCR 法检测移植瘤组织组 GUSBP11 和 miR-339-5p 的表达。与 sh-NC 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 6 GAS 细胞移植瘤生长和移植瘤组织中 MDM2 蛋白、GUSBP11 和 miR-330-5p 的表达

3 讨论

胃癌仍然是世界上最常见的恶性肿瘤之一,估计每年有超过 100 万例新病例。肿瘤恶性行为尤其是侵袭和转移,对癌症患者的预后产生了深远的影响^[9]。在中国,胃癌是一种患病率和病死人数都很高的恶性肿瘤,大多数癌症患者在确诊时已到晚期,目前胃癌患者的治疗包括手术干预、放疗、化疗和靶向药物治疗。其中手术和放化疗是治疗胃癌的主要手段,但治疗结果不理想,患者预后较差^[10-11]。随着对胃癌机制的进一步研究,分子靶向治疗已成为胃癌治疗领域的热点。此外,研究^[12]表明,许多基因都与胃

癌有关。因此,进一步研究胃癌的机制有助于改善胃癌的诊断和治疗。

lncRNA 的长度超过 200 nt,位于细胞核或细胞质中,能够参与人体许多重要的乳腺癌、肝癌、胃癌、宫颈癌和结肠癌等许多肿瘤疾病调控过程^[3]。YANG 等^[4]研究显示,GUSBP11 在肺腺癌中上调,并与预后恶化相关,敲减 GUSBP11 后能够在体外抑制肺腺癌细胞的增殖和转移,同时促进其凋亡,敲减 GUSBP11 可抑制肺腺癌的生长。ZHANG 等^[15]研究发现,GUSBP11 水平在鼻咽癌组织和细胞内高表达,敲减 GUSBP11 可抑制鼻咽癌细胞增殖和细胞转移。上述两项研究与本研究结果一致,本研究中,

GUSBP11 在胃癌组织和细胞中均高表达, 敲减 GUSBP11 后 AGS 细胞 EdU 阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数均明显下降, 且 CDK1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达均明显降低, 表明抑制 GUSBP11 表达能够抑制胃癌细胞的增殖、侵袭与迁移。还有研究证明, GUSBP11 通过调节 miR-579-3p/SPNS2 轴来阻碍三阴性乳腺癌进展^[16]。

miRNA 控制转录后基因表达, 并对许多生物过程产生重大影响, 进而参与胃肠道癌等疾病进展^[17]。YU 等^[18]研究证明, miR-339-5p 通过体外直接调控 ZNF689 抑制胰腺癌细胞的侵袭和迁移。本研究中, miR-339-5p 在胃癌组织和细胞中均呈低表达, 抑制 GUSBP11 表达能够诱导 miR-339-5p 表达, 进一步抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭。进一步进行了靶向结合实验发现, GUSBP11 与 miR-339-5p 之间存在靶向位点, 因此推测 GUSBP11 可能调控 miR-339-5p 表达从而介导胃癌细胞的增殖、迁移、侵袭。

MDM2 的致癌功能主要归因于其通过与 p53 结合而靶向 p53 降解的能力。MDM2 在癌症疾病中过表达会损害野生型 p53 的功能, 例如 DNA 修复、细胞周期停滞和凋亡, 并导致肿瘤生长, 加速肿瘤进展^[19]。因此, MDM2 是癌症的有希望的治疗靶点。研究^[20]表明, MDM2 过表达有助于 p53 降解并促进胃癌的发展。在 RPL22 敲减的胃癌细胞中, MDM2 表达上调, 敲减核糖体蛋白 L22 通过调节 MDM2-p53 信号通路促进增殖和迁移, 并抑制胃癌细胞凋亡^[21]。本研究发现, MDM2 与 miR-339-5p 之间有靶向位点, 进一步通过 qPCR 分析发现, MDM2 mRNA 在胃癌组织和胃癌细胞中呈高表达, 与上述文献结果一致。因此猜测在胃癌中, GUSBP11 可抑制 miR-339-5p 表达, 上调 MDM2 表达从而影响胃癌肿瘤进展。移植瘤实验研究发现, 抑制 GUSBP11 表达后, 移植瘤质量、体积均显著下降, 并检测到移植瘤组织中 GUSBP11、MDM2 蛋白水平均呈明显下调, miR-339-5p 表达明显上调, 此结果说明 GUSBP11 可抑制 miR-339-5p 表达, 诱导 MDM2 表达, 促进胃癌细胞增殖、迁移、侵袭。因此, 敲减 GUSBP11, 可上调 miR-339-5p 表达, 下调 MDM2 表达, 能够逆转此结果, 与 LIU^[22]等研究结果相似, 该研究中青光藻萼 A 通过 miR-3658 和 SMG1-UPF mRNA 衰变途径下调 MDM2 和 RNF6 来抑制胃癌细胞的恶性生物学行为。

综上, 在胃癌细胞中敲减 GUSBP11 表达能够抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭, 可能与 GUSBP11 调控 miR-339-5p/MDM2 轴有关。GUSBP11 可能是治疗胃癌的潜在靶点。但 GUSBP11 靶向 miR-339-5p/MDM2 轴的具体作用机制需要进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] GUO Q, XU J, HUANG Z, *et al.* ADMA mediates gastric cancer cell migration and invasion via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23(2): 325-334. DOI:10.1007/s12094-020-02422-7.
- [2] ZHAO J Q, LI X N, FU L P, *et al.* lncRNA LIFR-AS1 inhibits gastric carcinoma cell proliferation, migration and invasion by sponging miR-4698[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2): 153[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33355363/>. DOI:10.3892/mmr.2020.11792.
- [3] MA Y, XU X L, HUANG H G, *et al.* lncRNA TDRG1 promotes the aggressiveness of gastric carcinoma through regulating miR-873-5p/HDGF axis[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109425[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31726370/>. DOI:10.1016/j.biopha.2019.109425.
- [4] HANG Q, LU J, ZUO L G, *et al.* linc00641 promotes the progression of gastric carcinoma by modulating the miR-429/Notch-1 axis[J]. *Aging*, 2021, 13(6): 8497-8509. DOI:10.18632/aging.202661.
- [5] ZHENG R, LIANG J Y, LU J F, *et al.* Genome-wide long non-coding RNAs identified a panel of novel plasma biomarkers for gastric cancer diagnosis[J]. *Gastric Cancer*, 2019, 22(4): 731-741. DOI:10.1007/s10120-018-00915-7.
- [6] ZHANG S C, LIU S C, YUE C B, *et al.* Identification of necroptosis-associated miRNA signature for predicting prognosis and immune landscape in stomach adenocarcinoma[J/OL]. *Exp Cell Res*, 2024, 436(1): 113948[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38307189/>. DOI:10.1016/j.yexcr.2024.113948.
- [7] WANG C C, HUANG Y K, ZHANG J Y, *et al.* MiRNA-339-5p suppresses the malignant development of gastric cancer via targeting ALKBH1[J/OL]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 115: 104449[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32380054/>. DOI:10.1016/j.yexmp.2020.104449.
- [8] WANG X X, YAMAMOTO Y, IMANISHI M, *et al.* Enhanced G1 arrest and apoptosis via MDM4/MDM2 double knockdown and MEK inhibition in wild-type TP53 colon and gastric cancer cells with aberrant KRAS signaling[J/OL]. *Oncol Lett*, 2021, 22(1): 558[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34084225/>. DOI:10.3892/ol.2021.12819.
- [9] ZHANG T C, LI X, HE Y N, *et al.* Cancer-associated fibroblasts-derived HAPLN1 promotes tumour invasion through extracellular matrix remodeling in gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2022, 25(2): 346-359. DOI:10.1007/s10120-021-01259-5.
- [10] TAN Z, WANG W N, PENG J, *et al.* Impact of amarogentin on gastric carcinoma cell multiplication, apoptosis and migration via circKIF4A/miR-152-3p[J/OL]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 2156204[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35747689/>. DOI:10.1155/2022/2156204.
- [11] SHI X F, YU Q, WANG K B, *et al.* Active ingredients Isorhamnetin of Croci Srigma inhibit stomach adenocarcinomas progression by MAPK/mTOR signaling pathway[J/OL]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12607[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37537191/>. DOI:10.1038/s41598-023-39627-z.
- [12] SUN H Y, WANG Q Y, YUAN G, *et al.* Hsa_circ_0001649 restrains

- gastric carcinoma growth and metastasis by downregulation of miR-20a[J/OL]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(6): e23235[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32212290/>. DOI: 10.1002/jcla.23235.
- [13] CHEN S D, REN C L, ZHENG H, *et al.* The effect of long non-coding RNA (lncRNA) HCP5 on regulating epithelial-mesenchymal transition (EMT) -related markers in gastric carcinoma is partially reversed by miR-27b-3p[J/OL]. Med Sci Monit, 2020, 26: e921383[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32357145/>. DOI:10.12659/MSM.921383.
- [14] YANG S, GOU J, WANG P, *et al.* The lncRNA GUSB pseudogene 11 (GUSBP11) promotes the tumor growth and metastasis in lung adenocarcinoma[J]. Altern Ther Health Med, 2024, 30(5): 256-263.
- [15] ZHANG X F, LIU J Z, JI M M, *et al.* Long noncoding RNA GUSBP11 knockdown alleviates nasopharyngeal carcinoma *via* regulating miR-1226-3p/TM9SF4 axis[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2024, 39(2): 133-143. DOI:10.1089/cbr.2021.0391.
- [16] WU G B, SUN P L, QIN C Z. GUSBP11 inhibited the progression of triple negative breast cancer *via* targeting the miR-579-3p/SPNS2 axis[J]. Cell J, 2022, 24(5): 230-238. DOI: 10.22074/cellj.2022.8024.
- [17] ROSHANI M, MOLAVIZADEH D, SADEGHI S, *et al.* Emerging roles of miR-145 in gastrointestinal cancers: a new paradigm[J/OL]. Biomed Pharmacother, 2023, 166: 115264[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37619484/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115264.
- [18] YU Z Q, ZHAO S S, WANG L S, *et al.* miRNA-339-5p plays an important role in invasion and migration of pancreatic cancer cells [J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 7509-7517. DOI: 10.12659/MSM.917038.
- [19] 余咸辉, 占水平, 吴海龙, 等. 巴伐奇宁调节 Akt/MDM2/p53 信号通路影响肝癌细胞增殖, 凋亡和细胞周期[J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(13):2354-2359. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2024.13.007.
- [20] DENG M, ZHANG L, ZHENG W Y, *et al.* Helicobacter pylori-induced NAT10 stabilizes MDM2 mRNA *via* RNA acetylation to facilitate gastric cancer progression[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 9[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36609449/>. DOI:10.1186/s13046-022-02586-w.
- [21] SUN Z Q, QIU Z G, WANG Z K, *et al.* Silencing ribosomal protein L22 promotes proliferation and migration, and inhibits apoptosis of gastric cancer cells by regulating the murine double minute 2-protein 53 (MDM2-p53) signaling pathway[J/OL]. Med Sci Monit, 2021, 27: e928375[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34050122/>. DOI:10.12659/MSM.928375.
- [22] LIU Y Q, CHEN P, QI D Q, *et al.* Glaucoalyxin A inhibits the malignancies of gastric cancer cells by downregulating MDM2 and RNF6 *via* miR-3658 and the SMG1-UPF mRNA decay pathway[J/OL]. Front Oncol, 2022, 12: 871169[2025-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35814430/>. DOI:10.3389/fonc.2022.871169.
- [收稿日期] 2025-02-11 [修回日期] 2025-03-20
[本文编辑] 向正华